

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 15, 1977, pp. 603–605

Reagenziensparende Modifikation der Glucose-Dehydrogenase-Methode für den AutoAnalyzer II zur Glucosebestimmung in Venen- und Kapillarblut

Von K. J. Kornmüller und O. Müller-Plathe

Aus dem Zentrallaboratorium (Chefarzt: Dr. O. Müller-Plathe) des Allgemeinen Krankenhauses Altona, Hamburg

(Eingegangen am 1. März/31. Mai 1977)

Zusammenfassung: Es wird eine Modifikation der Glucose-Dehydrogenase-Methode für den AutoAnalyzer II beschrieben, durch die der Verbrauch an Enzymen und Coenzym gegenüber den bisherigen Angaben ohne Einbuße an Linearität beträchtlich reduziert wird. Bei einer Probenfrequenz von 80 pro Stunde gestattet das Fließschema die Glucosebestimmung aus Venenblut und aus verdünnten Kapillarblut-Hämolysaten ohne apparative Umrüstung.

A reagent-saving modification of the glucose dehydrogenase method for the determination of glucose in venous and capillary blood using the Autoanalyzer II

Summary: A modification of the glucose dehydrogenase method for the Autoanalyzer II is described, which permits a considerable reduction in the quantities of enzymes and coenzyme, without affecting linearity. Using the new modification and a sample frequency of 80 per hour, glucose can be determined in venous blood and in diluted capillary blood haemolysates with no change in the construction of the apparatus.

Einführung

Zur Bewältigung steigender Analysenzahlen wurde in unserem Laboratorium die Glucose-Dehydrogenase-Methode mit dem AutoAnalyzer II eingeführt. Für diese Methode sprachen die einfache Handhabung, die Haltbarkeit und der relativ niedrige Preis der Reagenzien bei ausreichender Spezifität (1, 2), für den AutoAnalyzer sprach die Einsparung eines gesonderten Enteiweißungsschrittes. Der Reagenzienverbrauch sollte dabei weitestgehend vermindert werden. Im folgenden wird nach gut halbjähriger Bewährung in der Routine eine reagenziensparende Modifikation der Glucose-Dehydrogenase-Methode beschrieben, mit der die Bestimmung sowohl im Plasma venöser Blutproben wie auch in Kapillarblut-Hämolysaten durchgeführt werden kann.

Material und Methoden

Geräte

AutoAnalyzer II mit Probennehmer IV, Pumpe II, Kolorimeter, Schreiber und Drucker.

In Abbildung 1 ist das von uns verwendete Fließschema dargestellt.

Reagenzien

1. Pufferlösung pH 7,6, Merck Nr. 14051

2. Reaktionslösung

a) Enzymgemisch (Glucose-Dehydrogenase, Mutarotase), Merck Nr. 14055

b) Coenzym (NAD), Merck Nr. 14055

c) Pufferlösung pH 7,6, Merck Nr. 14051. 1 Flasche Enzymgemisch und 1 Flasche Coenzym werden in 1 Liter Pufferlösung gelöst.

Konzentration der Reaktionslösung:

0,12 mol/l Phosphatpuffer pH 7,6

0,15 mol/l NaCl

2,6 kU/l Glucose-Dehydrogenase

55 U/l Mutarotase

0,55 mmol/l NAD

Haltbarkeit bei + 4 °C etwa 4 Wochen

3. NaCl-Brij-Lösung, Merck Nr. 9407.

Probenvorbereitung

Venenblut

EDTA-Kalium und Jodacetat-Natrium enthaltende Probenröhrchen¹⁾ zur Blutentnahme. Gute Durchmischung. Zentrifugation 5 Minuten bei 1500 g; Beschickung der Probenbecher mit 250 µl Plasma (ausreichend für 2 Bestimmungen).

Kapillarblut

Hämolysierlösung²⁾:

3 g Benzoesäure, Riedel-de Haen Nr. 33045

1 g Natriumfluorid, Merck Nr. 6441

1 g Di-Natriumoxalat, Merck Nr. 6556 in 1 Liter dest. Wasser lösen.

Zu 200 µl Hämolysierlösung als Vorlage in Eppendorfgläsern gibt man 40 µl Kapillarblut. Gut mischen, zentrifugieren. Die

¹⁾ Fa. W. Sarstedt, 5223 Nümbrecht-Rommelsdorf.

²⁾ Kompatibel mit dem Glucose-Analyzer der Fa. Yellow Springs Instruments (Vertretung für die Bundesrepublik Deutschland: Kipp & Zonen, 6242 Schönberg), der bei uns für Notfall-Glucosebestimmungen eingesetzt wird.

b) Vergleich mit den Sollwertangaben für die Hexokinase- und Glucose-Dehydrogenase-Methode in mmol/l (mg/dl).

	Sollwerte		Ergebnisse		n
	Hexokinase	Glucose-Dehydrogenase	Glucose-Dehydrogenase		
Pathonorm L 128/12	1,55 (28)	1,48 (26,7)	1,50 (27)		8
Labtrol LT 48	4,22 (76)	3,94 (71)	4,22 (76)		25
Seronorm 128/12	7,49 (135)	7,16 (129)	7,33 (132)		25
Pathonorm H 128/12	13,93 (251)	14,26 (257)	14,43 (260)		8
Pathotrol PT 66 H	14,15 (255)	—	14,21 (256)		25

Richtigkeit

Tabelle 3b ermöglicht einen Vergleich der Sollwertangaben für die Hexokinase- und (soweit vorhanden) für die Glucose-Dehydrogenase-Methode mit unseren Ergebnissen.

Recovery-Versuche an zwei Poolplasmen mit Ausgangskonzentrationen von 7,99 und 6,22 mmol/l und Zusätzen von 5,0 bzw. 10,0 mmol/l ergaben eine Wiederfindung von durchschnittlich 99,5% (98,4 bis 101,6%).

Drift

In 2 Versuchen über 30 Minuten entsprechend 40 Proben ergab sich jeweils eine Basisliniendrift von 0,00 mmol/l und eine Standarddrift von + 0,28 mmol/l (5 mg/dl) bei einer Konzentration von 11,4 mmol/l (205 mg/dl). Es sei hier besonders darauf hingewiesen, daß wir erst nach Einbau eines 340 nm-Filters auch in den Referenzkanal des Kolorimeters diese geringen Drifterscheinungen erreichten.

Verschleppung

Der Verschleppungskoeffizient nach *Hjelm* (5) wurde an wäßrigen Standardlösungen mit einer hohen Konzentration von 27,8 mmol/l und einer niedrigen von 2,78 mmol/l Glucose entsprechend den Angaben bei *Haeckel* (6) bestimmt. Von der höheren zur niedrigeren Konzentration beträgt der prozentuale Verschleppungskoeffizient 2,8% bei einer Probenfrequenz von 80/h und einer Waschzeit von 6 Sekunden, 2,4% bei einer Probenfrequenz von 80/h und einer Waschzeit von 8 Sekunden und 1,7% bei einer Probenfrequenz von 60/h und einer Waschzeit von 8 Sekunden. Das maximale Konzentrationsverhältnis zweier aufeinanderfolgender Proben sollte erfahrungsgemäß 3:1 nicht überschreiten. Anderenfalls empfiehlt sich die Wiederholung der niedrigen Probe als Doppelbestimmung, wobei der zweite Wert Gültigkeit hat.

Danksagung

Wir danken Frau *H. Thies* für ihre sorgfältige Mitarbeit.

Literatur

1. Sadoff, H. L. (1966), in *Methods in Enzymology* (Colowick, S. P. & Kaplan, N. O., ed.), Vol. 9, 103–107, Academic Press, New York.
2. Banauch, D., Brümmer, W., Ebeling, W., Metz, H., Rindfrey, H., Lang, H., Leybold, K. & Rick, W. (1975), *diese Z.* 13, 101–107.
3. E. Merck AG. Darmstadt, Arbeitsanleitung für den Technicon AutoAnalyzer II, Stand April 1976.
4. Scholer, A. & Pianezzi, A. (1976), *diese Z.* 14, 189–195.
5. Hjelm, H. (1968), *Z. Anal. Chem.* 243, 781–790.
6. Haeckel, R. & Porth, A. J. (1972), *diese Z.* 10, 91–94.

Dr. med. K. Kornmüller
Dr. med. O. Müller-Plathe
Zentrallaboratorium
des Allgemeinen Krankenhauses Altona
Paul-Ehrlich-Straße 1
2000 Hamburg 50

